

Mécanismes de la cancérogenèse colo-rectale : acquisitions récentes

Près de 5 % des cancers colo-rectaux surviennent dans le cadre de 2 prédispositions génétiques majeures dont les mécanismes moléculaires et les voies de transformation maligne sont maintenant bien identifiés : la polypose adénomateuse familiale et le syndrome HNPCC. Cette meilleure compréhension est essentielle pour améliorer le dépistage et la prise en charge de ces cancers héréditaires.

Astrid Lièvre, Pierre Laurent-Puig*

Si les cancers colo-rectaux sont des tumeurs très homogènes sur le plan de leurs caractéristiques anatomopathologiques (90 % sont des adénocarcinomes), les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis d'individualiser au moins 2 mécanismes moléculaires différents de carcinogenèse colo-rectale. Ce double mécanisme moléculaire à l'origine des cancers est étayé par l'existence de 2 types de prédispositions héréditaires majeures aux cancers colo-rectaux : la polypose adénomateuse familiale (PAF) et le syndrome *hereditary non polyposis colon cancer* (HNPCC). Cependant, si les mécanismes de carcinogenèse diffèrent, il semble que les voies de signalisation impliquées dans la transformation maligne des cellules épithéliales coliques soient identiques dans les 2 groupes de cancers colo-rectaux.

DEUX MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE CARCINOGENÈSE

Instabilité chromosomique

Le groupe le plus fréquent des cancers colo-rectaux, puisqu'il rend compte de 80 à 85 % des cancers colo-rec-

taux sporadiques, est caractérisé par la survenue de pertes alléliques sur le bras court des chromosomes 17 et 8 et sur le bras long des chromosomes 18, 5 et 22. Ces pertes alléliques sont associées à des mutations fréquentes des gènes suppresseurs de tumeurs, *p53* et *APC*, respectivement localisés sur le bras court du chromosome 17 et sur le bras long du chromosome 5 (v. tableau). Sur le bras long du chromosome 18, l'identification du gène suppresseur de tumeur ciblé par les pertes alléliques n'est pas certaine (plusieurs gènes sont des candidats potentiels *DCC*, *SMAD2* et [ou] *SMAD4*). Sur les chromosomes 1p, 8p et 22q, aucun gène suppresseur de tumeur n'a pu être identifié jusqu'à présent. Ces pertes alléliques sont souvent associées à une hyperploïdie. Les cancers colo-rectaux qui présentent ces caractéristiques moléculaires se regroupent selon un phénotype dit LOH+ (*loss of heterozygosity*). Les mécanismes moléculaires à l'origine de cette instabilité chromosomique sont largement incompris. La survenue de mutations stop du gène *APC*, en conduisant à la synthèse d'une protéine tronquée, pourrait jouer un rôle. En effet, la protéine APC maintient la polymérisation des

* U490 Laboratoire de toxicologie moléculaire, 45, rue des Saints-Pères, 75006 Paris ; Mél : pierre.laurent-puig@biomedicale.univ-paris5.fr
Pôle de cancérologie, Hôpital européen Georges Pompidou, 75015 Paris

Glossaire

Oncogènes : gènes codant une protéine ayant un rôle dans le contrôle de la prolifération cellulaire. Suite à une modification génétique (mutation, amplification, translocation), ces gènes peuvent être responsables du développement d'une tumeur par anomalie du contrôle de la division cellulaire avec activation du processus de prolifération.

Gènes suppresseurs de tumeur : gènes qui exercent, normalement, un rôle inhibiteur sur la division cellulaire. La présence d'un allèle normal de ces gènes inhibe le développement tumoral. La perte de la fonction normale dans les 2 allèles, secondaire à une mutation ou à une perte chromosomique, est responsable d'une anomalie de la régulation de la division cellulaire et d'une croissance tumorale. Ainsi, les 2 allèles d'un gène suppresseur de tumeur doivent être affectés pour entraîner le développement d'une tumeur (processus récessif).

Apoptose : processus physiologique de mort cellulaire programmée.

Perte allélique ou perte d'hétérozygotie (LOH pour *loss of heterozygosity*) : perte d'un des 2 allèles d'un gène secondaire à la perte d'un chromosome par anomalie de ségrégation (non-disjonction mitotique) ou autre mécanisme plus complexe.

Altération épigénétique : altération ne touchant pas directement la structure nucléotidique d'un gène mais étant responsable de modifications de l'expression de ce gène, notamment en jouant un rôle dans l'activation ou l'inhibition de leur promoteur.

MYH : une des 3 enzymes (avec OGG1 et MTH1) de réparation des dommages oxydatifs de l'ADN appartenant au système de réparation par excision de base BER. C'est un ADN-glycosylase dont le rôle est d'empêcher l'appariement inapproprié de la 8-oxoguanosine, produit stable des dommages oxydatifs de l'ADN, à une adénine au lieu d'une cytosine.

Instabilité microsatellitaire (MSI pour *microsatellite instability*) : survenue de mutations de type insertion/délétion au niveau de séquences répétées du génome, appelées microsatellites, secondaire à une inactivation d'un des gènes impliqués dans le processus de réparation des mésappariements de l'ADN survenant au cours de la réplication.

microtubules et se lie avec la protéine BUB1 qui elle-même interagit avec les kinétochores des chromosomes. Ainsi, l'altération du gène *APC* pourrait conduire à l'instabilité chromosomique en favorisant les anomalies de ségrégation chromosomique. Cependant, l'inactivation du gène *APC* n'est probablement pas suffisante pour provoquer l'instabilité chromosomique, et d'autres gènes sont probablement impliqués, en particulier ceux participant au contrôle du fuseau mitotique lors de la division cellulaire.¹

Instabilité génétique

L'autre groupe des cancers colo-rectaux est caractérisé par la présence d'une instabilité des locus microsatellites liée à un défaut de réparation des mésappariements de l'ADN. Les tumeurs appartenant à ce groupe ont un phénotype appelé MSI+ (*microsatellite instability*) et représentent 15 % des cancers colo-rectaux. Elles sont diploïdes. Les mutations des gènes *TP53* et *APC* sont significativement moins fréquentes que dans le groupe LOH+.²

Les microsatellites sont des séquences mono- à tétra-nucléotidiques répétées du génome humain, particulièrement sujettes à des erreurs d'appariement de nucléotides (mésappariements), survenant de façon physiologique au cours de la réplication de l'ADN et normalement réparées par les protéines du système de réparation des mésappariements de l'ADN (*DNA mismatch repair* ou MMR). En cas de déficience de ce système de réparation, par mutation, délétion ou méthylation de la région promotrice, il existe une accumulation de mutations secondaires au niveau de ces séquences répétées, dont les conséquences peuvent être délétères si ces dernières se situent au niveau de régions codantes de l'ADN. En conséquence, de nombreux gènes impliqués dans des voies de contrôle du cycle cellulaire, de l'apoptose et de la réparation de l'ADN peuvent être inactivés par la survenue de mutations dans des régions codantes répétées. En particulier, des mutations ont été décrites pour le gène du récepteur de type II du TGFβ (*transforming growth factor*), le gène pro-apoptique *BAX*, les facteurs de transcription *TCF-4* ou *E2F4*.³

Les cancers MSI+ sont beaucoup plus fréquents au niveau du côlon proximal qu'au niveau du côlon distal, où plus de 95 % des cancers sont de phénotype LOH+.

Le diagnostic d'instabilité microsatellitaire repose sur la découverte, par la technique de PCR (*polymerase chain reaction*), d'une augmentation ou d'une diminution du nombre de répétitions de plusieurs séquences microsatellites par l'analyse comparative de la taille des produits d'amplification de ces séquences provenant de l'ADN extrait du tissu tumoral et du tissu sain adjacent. Cette technique de biologie moléculaire est actuellement considérée comme la méthode de référence pour l'identification des tumeurs MSI+. La recherche d'une perte d'expression des protéines du système MMR, essentiellement hMSH1, hMLH2 et hMSH6, en immunohistochimie a été proposée comme une alternative à cette technique de

Anomalies génétiques des cancers colo-rectaux en fonction du phénotype LOH+ et MSI+

TUMEUR LOH+	TUMEUR MSI+
Hyperploïdie	Diploïde
Pertes alléliques sur 17p, 5q, 18q, 8p 22q	Peu ou pas de pertes alléliques
Mutations fréquentes des gènes suppresseurs de tumeur <i>TP53</i> , <i>APC</i>	Mutations rares des gènes <i>APC</i> , <i>TP53</i>
Mutations fréquentes de l'oncogène <i>KRAS2</i>	Mutations fréquentes de l'oncogène <i>BRAF</i>
	Altérations des gènes de la réparation des mésappariements de l'ADN (<i>hMSH2</i> , <i>hMLH1</i> , <i>hMSH6</i> , <i>hMLH3</i> et <i>hMSH3</i>)
	Mutations des gènes <i>TGFR11</i> , <i>BAX</i> , <i>TCF4</i> , β -caténine
Instabilité chromosomique	Instabilité génétique

Tableau

biologie moléculaire par plusieurs équipes avec une sensibilité et une spécificité intéressantes. Elle permet surtout, dans le cadre d'un syndrome HNPCC, d'orienter les recherches génétiques de mutation sur le gène codant la protéine absente en immunohistochimie.

DEUX SYNDROMES DE PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE

Si la plupart des cancers colo-rectaux sont sporadiques, environ 5 % d'entre eux surviennent dans le cadre d'une prédisposition génétique majeure. Deux syndromes sont maintenant très largement identifiés sur le plan génétique.

La polypose adénomateuse familiale : une dégénérescence inéluctable

La maladie est due à la présence d'une mutation germinale du gène *APC*. Il s'agit d'une maladie autosomique dominante dont la pénétrance est élevée. Cette maladie se caractérise par la présence de plusieurs centaines d'adénomes coliques qui, en l'absence de coloproctectomie totale prophylactique, se transformeront inéluctablement en cancer avant l'âge de 40 ans. Cette maladie s'accompagne d'adénomes duodénaux ayant un potentiel de dégénérescence maligne et parfois de manifestations extradiigestives, les plus fréquentes étant les kystes sébacés, l'hypertrophie de l'épithélium pigmentaire rétinien et les tumeurs desmoïdes de la paroi abdominale. Les cancers de la PAF sont tous de phénotype LOH+.

Récemment, des auteurs* ont mis en évidence l'existence d'une mutation germinale biallélique du gène *MYH* chez des patients ayant un phénotype de PAF classique sans mutation germinale du gène *APC* : dans ce cas, la transmission se faisait sous le mode autosomique récessif. Le gène *MYH* est un gène de réparation de l'ADN appartenant au système de réparation BER (*base excision*

repair), particulièrement impliqué dans le processus de réparation des lésions oxydatives de l'ADN. Dans cette étude, les patients porteurs d'une mutation biallélique de *MYH* avaient le même profil phénotypique et évolutif que les patients atteints d'une PAF atténuée. Par conséquent, chez les patients ayant un phénotype de polypose adénomateuse sans mutation germinale du gène *APC* identifiable et dont l'histoire familiale est compatible avec une transmission autosomique récessive, la recherche d'une mutation germinale biallélique du gène *MYH* doit être réalisée. La présence d'une telle mutation impose, en effet, la même prise en charge que les patients porteurs d'une mutation germinale du gène *APC*, et la réalisation d'un dépistage familial chez les apparentés.

CE QUI EST NOUVEAU

- Les mutations germinales bialléliques de *MYH* prédisposent à un phénotype de polypose colique avec risque de cancer colo-rectal selon une transmission autosomique récessive.
- Une analyse génétique de *MYH* doit être réalisée chez les individus ayant une polypose colo-rectale (plus de 10 polypes) ne s'intégrant pas dans une PAF (absence de mutation germinale de *APC*) et ayant une histoire familiale de polypose, associée ou non à un cancer colo-rectal dont la transmission n'apparaît pas dominante, afin de faire le diagnostic génétique des cas index.
- Un conseil génétique dans la famille des cas index doit être effectué afin d'identifier les apparentés porteurs de la mutation germinale biallélique de *MYH*.
- Une surveillance coloscopique ainsi qu'un traitement chirurgical similaires à ceux recommandés chez les malades ayant une PAF doivent être proposés chez les sujets porteurs d'une mutation biallélique de *MYH*.

Le syndrome HNPCC, une maladie génétique fréquente

La maladie est liée à la présence d'une mutation constitutionnelle sur l'un des gènes du système de réparation des mésappariements de l'ADN. Les 2 principaux gènes impliqués sont les gènes *hMSH2* et *hMLH1*, plus rarement le gène *hMSH6*. La fréquence des altérations de ces gènes *MMR* dans la population générale est estimée entre 2/1 000 et 1/1 000, ce qui fait du syndrome HNPCC une maladie génétique fréquente.⁵ Cette prédisposition au cancer du côlon peut s'accompagner d'autres manifestations, en particulier il existe un risque important de cancer de l'endomètre. Les cancers se développant au cours de ce syndrome sont toujours de phénotype MSI+. Plus de 90 % des cancers colo-rectaux ayant un phénotype MSI+ surviennent dans un cadre sporadique. Une étude⁶ a montré que la recherche de la présence d'une instabilité microsatellitaire pouvait être limitée aux malades dont le cancer est survenu avant l'âge de 50 ans ou aux malades ayant un antécédent familial au 1^{er} degré d'un cancer colo-rectal ou de l'endomètre, quel que soit l'âge de survenue, ou enfin aux malades ayant de multiples cancers appartenant au spectre des tumeurs se développant chez les sujets HNPCC, ce qui permettait d'améliorer nettement la sensibilité de ce test de détection, aux alentours de 30 %. La recherche de mutations des gènes *hMSH2* ou *hMLH1* peut alors être réservée au sous-groupe de malades MSI+ chez lesquels une mutation d'un des 2 gènes *hMSH2* ou *hMLH1* a été identifiée dans 50 % des cas dans cette même étude.⁶ Dans ce syndrome, les risques cumulés au cours de l'existence pour le cancer du côlon sont de 80 % pour les hommes et de 50 % pour les femmes à l'âge de 80 ans. Le risque cumulé de cancer de l'endomètre est de l'ordre de 40 à 60 % à 80 ans.

LES DIFFÉRENTES VOIES DE TRANSFORMATION MALIGNE

La voie de signalisation WNT ou voie APC/β-caténine

Le gène *APC*, partenaire essentiel de cette voie de signalisation, est muté dans 60 à 80 % des cancers colo-rectaux de phénotype LOH+. Cette mutation, conduisant en général à la synthèse d'une protéine tronquée par la survenue d'un codon stop, constitue l'un des 2 événements qui inactivent une des copies du gène *APC*. L'autre événement est la perte d'un des 2 bras longs du chromosome 5. Une protéine APC de taille normale ne peut être mise en évidence que dans 15 % des cancers colo-rectaux. Le gène *APC* fait partie de la famille des gènes suppresseurs de tumeur. Il est situé dans la région chromosomique 5q21-q22. Le produit du gène *APC* est une protéine de 311 kDa constituée de 2 844 acides aminés

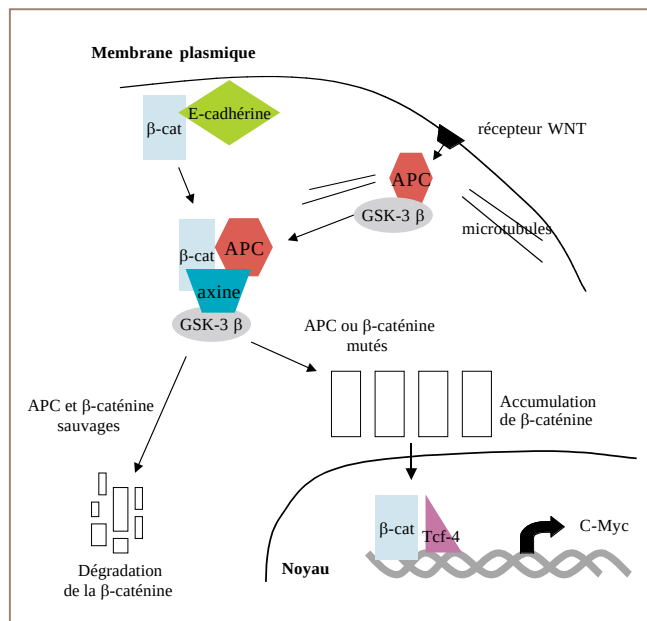


Figure 1 Voie de signalisation WNT impliquant le couple APC/β-caténine.

Dans les cellules normales, en l'absence d'activation de la voie de signalisation WNT, la protéine APC exerce une régulation négative sur la β-caténine grâce à l'aide de 2 partenaires : l'axine et la GSK3β. La GSK3β permet la dégradation de la β-caténine par le protéasome et empêche ainsi son accumulation dans le cytoplasme des cellules. Dans les cellules tumorales, l'activation du récepteur WNT entraîne une accumulation de la protéine β-caténine dans le cytoplasme des cellules en raison d'une inactivation de la GSK3β. La β-caténine forme alors, avec le facteur de transcription TCF4, un complexe protéique qui va se transloquer dans le noyau pour permettre la transcription de gènes favorisant la prolifération cellulaire tels que l'oncogène *c-MYC*. Une autre voie d'activation du complexe β-caténine-TCF4 est la survenue de mutations du gène de la β-caténine, du gène *APC* ou du gène de l'axine2.

formant des homodimères par sa partie N-terminale, localisée au pôle basolatéral de la cellule épithéliale colique. Le contrôle négatif du gène *APC* sur le cycle cellulaire se fait à travers l'interaction de la protéine APC avec la β-caténine (fig. 1). La protéine β-caténine est l'élément essentiel de la voie de signalisation médiée par l'oncogène *WNT*. Après une activation du récepteur WNT, la protéine β-caténine s'accumule dans le cytoplasme des cellules activées. Elle forme un complexe protéique avec le facteur de transcription TCF4. Ce complexe est alors transloqué dans le noyau où il permet la transcription de gènes favorisant la prolifération cellulaire. Il a été montré dans des cellules déficientes pour la protéine APC que le complexe β-caténine-TCF4 est stable et actif de manière constitutive. La régulation négative exercée par la protéine APC sur la β-caténine implique d'autres partenaires comme l'axine et la glycogène-kinase 3β (GSK3β). Cette dernière kinase permet la dégradation de la β-caténine par le protéasome.

Une autre voie d'activation du complexe protéique β -caténine-TCF4 est la survenue de mutation de la β -caténine empêchant sa dégradation par le protéasome. Il existe ainsi une accumulation de β -caténine au niveau des cellules tumorales. Une activation de la voie de signalisation WNT entraîne une inactivation de la GSK3 β permettant l'accumulation cytoplasmique de la β -caténine qui ne peut plus être dégradée et une activation du complexe β -caténine-TCF4. Un des gènes-cibles de la transcription induite par le complexe β -caténine-TCF4 est l'oncogène *c-MYC*, surexprimé dans les cancers colo-rectaux où il induit une prolifération des cellules épithéliales coliques. Au cours de la prolifération maligne, le complexe β -caténine-TCF4 devient actif de manière constitutive, soit par la survenue d'une inactivation du gène *APC* ou du gène de l'AXINE2, soit par la mutation activatrice du gène de β -caténine conduisant à la prolifération des cellules épithéliales coliques vers la surface des cryptes intestinales, participant ainsi à la formation des cryptes aberrantes, premières lésions préneoplasiques visibles sur le plan histologique.

Le rôle de cette voie de signalisation ne s'arrête pas là dans la transformation maligne des cellules. En effet, la β -caténine se lie avec la E-cadhérine. Cette protéine appartient à une famille de glycoprotéines transmembranaires nécessaires à l'adhésion entre les cellules. La présence de la β -caténine semble indispensable à l'adhésion cellulaire médiée par la E-cadhérine. Il a été suggéré que la protéine APC, en déplaçant la β -caténine de son site de liaison à la E-cadhérine, empêche celle-ci de jouer son rôle de protéine d'adhérence et favorise la migration des cellules épithéliales coliques vers le sommet des villosités et leur desquamation dans la lumière intestinale.

La voie de signalisation WNT est activée dans les 2 types de cancers colo-rectaux LOH+ et MSI+. Dans les cancers LOH+, il s'agit principalement d'une inactivation biallélique du gène *APC* et dans les cancers MSI+, de mutations activatrices de la β -caténine, ou inactivatrice de l'axine2.^{1,7} La fréquence d'activation de cette voie de signalisation dans les 2 types de cancers est proche de 80 %, et elle apparaît ainsi essentielle dans la carcinogénèse des cancers colo-rectaux.

La voie de signalisation du TGF β

TGF β et les membres de sa famille sont des facteurs de croissance dont l'effet biologique le plus caractéristique est l'inhibition de la prolifération cellulaire. Deux gènes – *SMAD2* et *SMAD4* – participent à la transduction du signal entre le récepteur du TGF β et le noyau cellulaire (fig. 2). Très schématiquement, le TGF β activé se lie au récepteur de type II du TGF β en formant un complexe protéique avec le récepteur du TGF β de type I. Ce complexe, activé par phosphorylation, phosphoryle à son tour la protéine codée par le gène *SMAD2*. Elle forme alors un hétérodimère avec le produit du gène *SMAD4*. Ce complexe protéique est transloqué dans le noyau, participe à la transcrip-

tion de gènes qui contrôlent négativement le cycle cellulaire comme le gène *MTS2*. Ces 2 gènes, *SMAD2* et *SMAD4*, ont des mutations inactivatrices de la région codante dans 20 à 30 % des cancers colo-rectaux. Cette voie de signalisation est par ailleurs ciblée de manière évidente dans les cancers colo-rectaux MSI+ puisque le récepteur de type II du TGF β est invalidé de manière biallélique dans 60 à 80 % de ces cancers colo-rectaux. Ce gène possède, dans sa séquence codante, une séquence répétée microsatellite de 10 adénines, siège d'erreur de réplication non réparée par le système de réparation des mésappariements de l'ADN. Ces mutations conduisent à un décalage du cadre de lecture et à la synthèse d'un récepteur tronqué non fonctionnel. Un autre gène de cette voie de signalisation, le récepteur du facteur de croissance insulinaire (IGFR) est lui aussi inactivé de la même manière sur une séquence répétée de 8 guanines : il se trouve en amont du récepteur de type II du TGF β sur la voie de signalisation du TGF β et permet son activation. Cette voie de signalisation est donc inactivée dans les 2 types de cancers colo-rectaux, quasi systématiquement dans les cancers de phénotype MSI+ et plus rarement parmi les phénotypes LOH+.

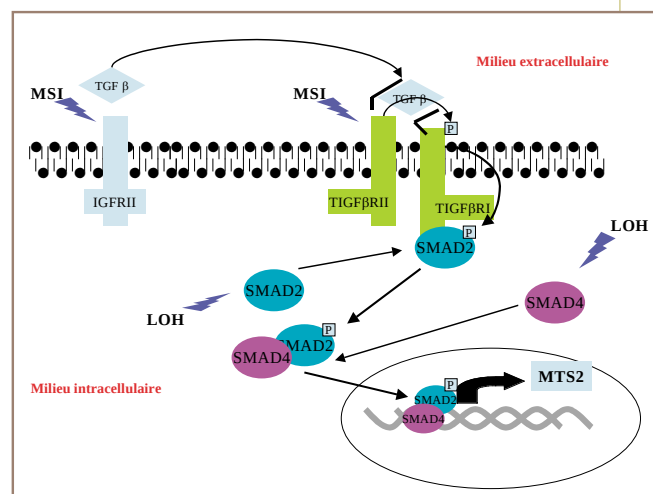


Figure 2 Voie de signalisation du TGF β et altérations des différents partenaires en fonction du phénotype LOH+ ou MSI+ des cancers.

Le TGF β exerce un rôle d'inhibition sur la croissance cellulaire, médié par l'activation de son récepteur hétérodimérique (comprenant 2 sous-unités I et II) qui constitue une sérine / thréonine kinase. Le TGF β -R (I+II) phosphoryle à son tour la protéine SMAD2 qui va former un complexe avec SMAD4. Ce complexe protéique est transloqué dans le noyau où il favorise la transcription de gènes qui contrôlent négativement le cycle cellulaire comme le gène *MTS2*. Cette voie de signalisation est mise en défaut dans les 2 types de cancers colo-rectaux : principalement ceux de phénotype MSI+ où le TGF β -RII et l'IGFR situé en amont sont rendus non fonctionnels par mutation inactivatrice, et plus rarement ceux de phénotype LOH+ où les gènes *SMAD2* et *SMAD4* peuvent être la cible de pertes alléliques.

La voie de signalisation RAS

La famille des gènes *RAS* comprend 3 gènes bien caractérisés *HRAS*, *NRAS* et *KRAS2*. Les protéines issues de ces gènes ont un poids moléculaire de 21 000 daltons, d'où leur nom de p21. Elles sont localisées à la face interne de la membrane cytoplasmique, ancrées dans la couche phospholipidique membranaire par leur extrémité C terminale. Les protéines RAS appartiennent à la classe des molécules qui ont pour fonction la transduction du signal du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire. Elles servent de liens entre les récepteurs membranaires et les protéines-kinases intracytoplasmiques effectrices en couplant, par exemple, les récepteurs des facteurs de croissance situés à la face externe de la membrane cytoplasmique à l'enzyme effectrice phospholipase C clivant le phosphatidylinositol-biphosphate en diacylglycérol et en inositol triphosphate, seconds messagers de la réponse cellulaire. Les protéines RAS oscillent entre un état actif où elles sont liées au GTP (guanosine-triphosphate) et un état inactif où elles sont liées au GDP (guanosine-diphosphate). L'activation des protéines RAS normales ou mutées survient lors du remplacement du GDP par le GTP, catalysé par une protéine appartenant à la famille des protéines appelée GEF (*guanine nucleotide exchange factors*). L'inactivation des protéines RAS est provoquée par l'hydrolyse du GTP en GDP catalysée par la protéine RAS elle-même. Les protéines de la famille RAS entraînent une cascade d'activations de protéines-kinases de type sérine/thréonine-kinases qui conduisent finalement à l'expression de certains gènes. Les oncogènes *RAS* sont activés par la présence d'une mutation faux sens qui

leur confèrent un pouvoir transformant. La prévalence des mutations de l'oncogène *KRAS2* est concordante et avoisine 40 % des cancers colo-rectaux. Ces mutations surviennent essentiellement dans les cancers de type LOH+. Récemment, une protéine appartenant à la cascade RAS a été montrée activée par mutation ponctuelle, il s'agit d'une sérine-thréonine-kinase codée par le gène *BRAF2* : environ 20 % des cancers colo-rectaux sont porteurs d'une mutation de ce gène. Ces mutations sont exclusives des mutations du gène *KRAS2*. Elles surviennent significativement plus fréquemment dans les cancers MSI+ que dans les cancers LOH+. ⁸ La voie de transduction de signal passant par les protéines RAS apparaît donc activée de manière constitutive dans 60 % des cancers colo-rectaux, quel que soit leur phénotype.

Le gène suppresseur de tumeur TP53

Le gène suppresseur de tumeur *TP53* est invalidé à la fois par des pertes alléliques et des mutations ponctuelles dans 60 à 80 % des cancers colo-rectaux de type LOH+. Les mutations du gène *TP53* sont significativement moins fréquentes dans le phénotype MSI+. Le rôle de la protéine p53, codée par le gène *TP53* est double. D'une part, elle bloque le cycle cellulaire, essentiellement en phase G1/S, en induisant la transcription du gène inhibiteur du cycle cellulaire *CIP/WAF1* lors de lésions de l'ADN afin de permettre la réparation de ces lésions avant la division cellulaire. D'autre part, elle peut induire l'apoptose en favorisant la transcription du gène pro-apoptique *BAX* si les lésions de l'ADN sont trop importantes pour être réparées. La protéine p53 jouerait ainsi le rôle de « gardien du

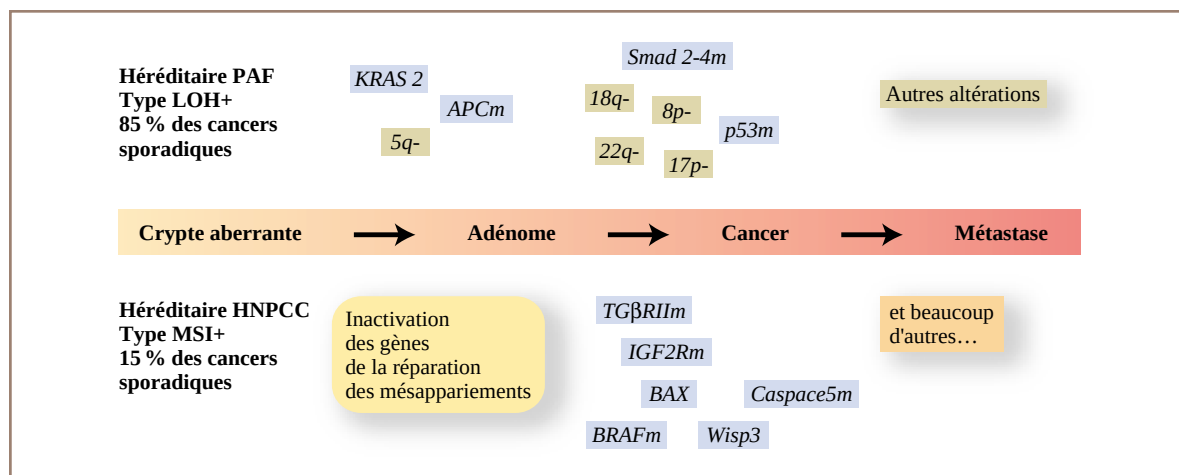


Figure 3 Chronologie des événements génétiques dans les 2 types génétiques de cancer colo-rectal.

Dans les cancers colo-rectaux de phénotype LOH+ (partie haute de la figure), les mutations des gènes *KRAS2* et *APC* sont présentes dès les étapes initiales de la carcinogenèse. Plus tardivement, lors de la transformation des adénomes en carcinomes, apparaissent les pertes alléliques des chromosomes 17p et 18q qui s'accompagnent de mutations des gènes suppresseurs de tumeur *TP53*, *SMAD2* et *SMAD4*. Dans les cancers colo-rectaux de phénotype MSI+ (partie basse de la figure), la chronologie des altérations est moins bien connue mais la mutation de *TGFBR11* apparaît la plus précoce, suivie de l'inactivation des gènes de réparation des mésappariements de l'ADN et des mutations de l'*IGFR* et du gène de la β -caténine.

POUR LA PRATIQUE

LE SYNDROME HNPCC (HEREDITARY NON POLYPOSIS COLON CANCER)

- Le diagnostic de syndrome HNPCC repose sur les critères d'Amsterdam I et II indiquant la recherche génétique, par simple prise de sang, d'une mutation constitutionnelle d'un des gènes codant les protéines du système MMR (*hMLH1*, *hMSH2*, plus rarement *hMSH6*, *hPMS2* et *TGFβRII*) retrouvée dans environ 75 % des cas.
- En cas de diagnostic de syndrome HNPCC chez un sujet atteint cliniquement, un conseil génétique dans la famille s'impose afin d'identifier les apparentés porteurs de la mutation constitutionnelle délétère.
- En cas de diagnostic de syndrome HNPCC positif ou de mutation constitutionnelle d'un gène MMR identifiée, un programme de dépistage du cancer colo-rectal et de l'endomètre est indiqué : coloscopie à partir de 20-25 ans, puis tous les 2 ans (voire plus si polypes) ; échographie endovaginale et frottis aspiratif annuels à partir de 30 ans.
- Les gestes thérapeutiques actuellement recommandés chez les sujets porteurs d'une mutation associée au syndrome HNPCC sont : la colectomie totale en cas d'adénome d'une taille supérieure à 1 cm ou de cancer colo-rectal ; l'hystérectomie avec ovariectomie qui doit être discutée lorsque le couple n'a plus de désir d'enfant.

Critères d'Amsterdam I (et II)

■ Critère de nombre	Au moins 3 cas familiaux de cancer colo-rectal (ou de cancers du spectre HNPCC)
■ Critère de parenté	Patients unis par un lien de parenté au 1 ^{er} degré sur 2 générations successives
■ Critère d'âge	Au moins un des cancers survenus avant l'âge de 50 ans

LA POLYPOSE ADÉNOMATEUSE FAMILIALE (PAF)

- Le diagnostic repose sur l'identification d'une mutation constitutionnelle du gène *APC* initialement recherchée chez un sujet atteint cliniquement d'une polypose colo-rectale, associée ou non à des manifestations extracoliques.
- En cas de diagnostic de PAF chez un sujet atteint cliniquement, un conseil génétique dans la famille s'impose, afin d'identifier les apparentés porteurs de la mutation constitutionnelle délétère.
- Le traitement repose sur la coloproctectomie totale (ou la colectomie totale avec conservation du rectum nécessitant une surveillance endoscopique) qui doit être réalisée vers l'âge de 20 ans et précédée d'une surveillance coloscopique semestrielle dont le début est fonction de l'âge de diagnostic des polypes chez les sujets atteints de la famille (en général à la puberté).
- Une chimioprévention par anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques ou inhibiteurs spécifiques de la cyclo-oxygénase 2 peut être proposée en attendant le traitement chirurgical, afin de diminuer ou de stabiliser la polypose colo-rectale.

Cancers du spectre HNPCC

- Cancer colo-rectal (90 %)
- Cancer de l'endomètre (40 %)
- Cancer des voies urinaires excrétrices, de l'estomac, des voies biliaires (10 %)
- Cancer de l'ovaire (3 %)
- Cancer de l'intestin grêle (1 %)
- Autres : tumeurs cutanées de type kérato-acanthome, cancer spino-cellulaire et kyste sébacé (syndrome de Muir-Torr) ou tumeur cérébrale de type glioblastome (syndrome de Turcot)

génomique » en bloquant le cycle cellulaire, afin de permettre la réparation des lésions de l'ADN, et en induisant la mort cellulaire si les lésions n'ont pu être réparées. L'altération du gène *p53* serait donc au centre de la transformation maligne d'une cellule en autorisant la survenue d'altérations génétiques multiples, parfois de grande taille, à type de délétion ou d'amplification traduisant une instabilité chromosomique. Cependant, la part relative des altérations du gène *APC* et du gène *TP53* reste à déterminer. La voie de signalisation *p53* n'est pas seulement invalidée dans les cancers LOH+ mais aussi dans les cancers MSI+. En effet, le gène *BAX* est la cible d'altérations sur une séquence répétée codante de 8 guanines dans 30 à 50 % des cancers colo-rectaux de phénotype MSI.

Chronologie des événements génétiques

Les étapes précoces de la transformation maligne des cellules ont été particulièrement bien étudiées dans les

cancers LOH+. Dans ce cas, les mutations des gènes *KRAS2* et *APC* sont présentes dès les étapes initiales de la carcinogenèse. En effet, les mutations de l'oncogène *KRAS2* sont présentes dès la formation des foyers de cryptes aberrantes, les mutations du gène suppresseur *APC* dès l'apparition de la dysplasie dans ces foyers de cryptes aberrantes. Concernant les lésions précoces des cancers MSI+, les données sont plus fragmentaires, il apparaît cependant qu'un certain nombre d'adénomes se développant chez des sujets HNPCC aient un phénotype MSI+. Parmi les mutations des gènes cibles, la mutation du récepteur de type II du TGFβ apparaît la plus précoce.

Plus tardivement, lors de la transformation des adénomes en carcinomes, apparaissent les pertes alléliques des chromosomes 17p et 18q qui s'accompagnent des mutations des gènes suppresseurs de tumeur *TP53*, *SMAD2* et *SMAD4* (fig. 3). Concernant les cancers MSI+, la chronologie des altérations est moins bien connue.

Rôle de la méthylation de l'ADN

Parallèlement aux altérations structurales de l'ADN et à la perte physique de certains gènes qui constituent les mécanismes génétiques à l'origine de la cancérogenèse colo-rectale, des mécanismes épigénétiques peuvent jouer un rôle important dans la survenue des cancers colo-rectaux. La méthylation de l'ADN entraîne des modifications de l'expression des gènes en fonction du niveau de méthylation de leur ADN. La méthylation de l'ADN est sous la dépendance d'enzymes, les ADN-méthyltransférase (DNMT), qui catalysent le transfert de groupements méthyle des S-adenosyl-méthionines vers des résidus cytosine. La DNMT-1 est l'enzyme la mieux étudiée. Le mécanisme spécifique par lequel l'activité des DNMT et l'état de méthylation de l'ADN sont régulés reste, à ce jour, peu compris. Des taux élevés d'activité DNMT ont été mis en évidence dans les cellules cancéreuses coliques.⁹ De plus, il a été montré que la surexpression de la DNMT-1 pouvait conduire à la transformation cellulaire maligne.¹⁰ La méthylation des cytosines contenues dans les îlots CpG, régions riches en dinucléotides CG (cytosine-guanine) situées au niveau de promoteurs de certains gènes, est capable d'inhiber l'expression de ces gènes. Parallèlement à l'hyperméthylation du gène de réparation *hMLH1*, communément retrouvée dans les cancers colo-rectaux de phénotype MSI+ où elle est responsable d'une inactivation de ce gène, l'hyperméthylation du gène *p16 INK4A* est observée dans 28 à 55 % des cancers colo-rectaux.^{11,12} D'autres gènes, directement impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire sont également méthylés dans le cancer colo-rectal. Un phénotype méthylateur est ainsi décrit.¹³

CONCLUSION

Les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la carcinogenèse colo-rectale, aussi bien des cancers colo-rectaux sporadiques que de ceux s'intégrant dans un syndrome de prédisposition héréditaire, tels que la PAF et le syndrome HNPCC. Cette nouvelle classification nosologique des cancers colo-rectaux, basée sur leur mode de cancérogenèse, n'est pas seulement intéressante sur le plan de la compréhension des anomalies moléculaires responsables de la transformation maligne d'une cellule épithéliale colique, mais aussi sur le plan de la prise en charge des malades. Il semble, en effet, que les malades dont la tumeur est de phénotype MSI+ aient un meilleur pronostic, pour un stade histologique identique, que les malades ayant une tumeur de phénotype LOH+.^{14,15} Par ailleurs, elle a permis des progrès considérables quant au diagnostic des cancers colo-rectaux héréditaires tout en améliorant leur prévention et leur traitement. ■

SUMMARY Colorectal carcinogenesis: update

Recent progresses in molecular biology have allowed us to identify at least two different molecular mechanisms implicated in colorectal carcinogenesis: chromosomal instability and genetic instability. These two molecular mechanisms are supported by two hereditary syndromes that predispose to colorectal cancers: familial adenomatous polyposis and hereditary non polyposis colorectal cancer syndrome. In spite of these two different mechanisms, the signalling pathways implicated in the malignant transformation of colonic epithelial cells seem to be the same. They are essentially represented by APC/β-catenin, TGFβ, RAS and TP53 signalling pathways. This new molecular classification of colorectal cancers is important for the understanding of molecular alterations responsible for tumour development but also for the management of patients.

Rev Prat 2004 ; 54 : 143-50

RESUMÉ Mécanismes de la cancérogenèse colo-rectale : acquisitions récentes

Les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis d'individualiser 2 mécanismes moléculaires différents de carcinogenèse colo-rectale : l'instabilité chromosomique et l'instabilité génétique. Ce double mécanisme moléculaire est étayé par l'existence de 2 types de prédispositions héréditaires majeures aux cancers colo-rectaux : la polyposé adénomateuse familiale colique et le syndrome HNPCC. Cependant, s'il existe des mécanismes de carcinogenèse différents, il semble que les voies de signalisation impliquées lors de la transformation maligne des cellules épithéliales coliques soient identiques dans les 2 groupes de cancers colo-rectaux. Elles sont essentiellement représentées par la voie de signalisation APC/β-caténine, du TGFβ, RAS et les voies impliquant TP53. Cette classification moléculaire des cancers colo-rectaux est intéressante sur le plan de la compréhension des anomalies moléculaires responsables de la transformation d'une cellule maligne, mais aussi sur le plan de la prise en charge des malades atteints d'un cancer colo-rectal.

RÉFÉRENCES

- Liu W, Dong X, Mai M *et al*. Mutations in AXIN2 cause colorectal cancer with defective mismatch repair by activating β-catenin/TCF signalling. *Nat Genet* 2000 ; 26 : 146-7.
- Olschwang S, Hamelin R, Laurent-Puig P *et al*. Alternative genetic pathways in colorectal carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 12122-7.
- Duval A, Hamelin R. Mutations at coding repeat sequences in mismatch repair-deficient human cancers: toward a new concept of target genes for instability. *Cancer Res* 2002 ; 62 : 2447-54.
- Siebert OM, Lipton L, Crabtree M *et al*. Multiple colorectal adenomas, classic adenomatous polyposis, and germ-line mutations in MYH. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 791-9.
- Aaltonen LA, Salovaara R, Kristo P *et al*. Incidence of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and the feasibility of molecular screening for the disease. *N Engl J Med* 1998 ; 338 : 1481-7.
- Salovaara R, Loukola A, Kristo P *et al*. Population-based molecular detection of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000 ; 18 : 2193-200.
- Sparks AB, Morin PJ, Vogelstein B *et al*. Mutational analysis of the APC/β-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998 ; 58 : 1130-4.
- Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C *et al*. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* 2002 ; 418 : 934.
- El-Deiry WS, Nelkin BD, Celano P *et al*. High expression of the DNA methyltransferase gene characterizes human neoplastic cells and progression stages of colon cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 ; 88 : 3470-4.
- Wu J, Issa JP, Herman J *et al*. Expression of an exogenous eukaryotic DNA methyltransferase gene induces transformation of NIH 3T3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 8891-5.
- Guan RJ, Fu Y, Holt PR *et al*. Association of K-ras mutations with p16 methylation in human colon cancer. *Gastroenterol* 1999 ; 116 : 1063-71.
- Liang JT, Chang KJ, Chen JC *et al*. Hypermethylation of the p16 gene in sporadic T3N0M0 stage colorectal cancers: association with DNA replication error and shorter survival. *Oncology* 1999 ; 57 : 149-56.
- Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M *et al*. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 8681-6.
- Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ *et al*. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001 ; 344 : 1196-206.
- Elsaleh H, Joseph D, Griew F *et al*. Association of tumour site and sex with survival benefit from adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. *Lancet* 2000 ; 355 : 1745-50.